

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

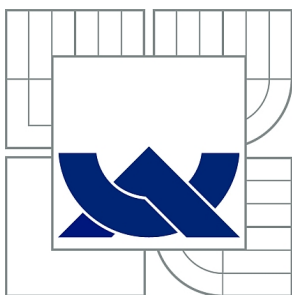
VYUŽITÍ BUCHWALD-HARTWIGOVY REAKCE V SYNTÉZE
AROMATICKÝCH TERCIÁRNÍCH AMINŮ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

MARIE VYSOKÁ

BRNO 2015



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

VYUŽITÍ BUCHWALD-HARTWIGOVY REAKCE V SYNTÉZE AROMATICKÝCH TERCÍÁRNÍCH AMINŮ

USING OF BUCHWALD-HARTWIG REACTION IN THE SYNTHESIS OF AROMATIC TERTIARY
AMINES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

MARIE VYSOKÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. JOZEF KRAJČOVIČ, Ph.D.

BRNO 2015



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0953/2014	Akademický rok: 2014/2015
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie	
Student(ka):	Marie Vysoká	
Studijní program:	Chemie a chemické technologie (B2801)	
Studijní obor:	Chemie pro medicínské aplikace (2808R031)	
Vedoucí práce	Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.	
Konzultanti:		

Název bakalářské práce:

Využití Buchwald-Hartwigovy reakce v syntéze aromatických terciárních aminů

Zadání bakalářské práce:

- vypracování literární rešerše zaměřené na přípravu terciárních arylaminů pomocí Buchwald-Hartwigovy reakce s využitím neaktivovaných arylhalogenidů a sekundárních alifatických aminů
- studium syntetických možností klíčových intermediátů

Termín odevzdání bakalářské práce: 29.5.2015

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Marie Vysoká
Student(ka)

Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.
Vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 30.1.2015

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Předkládaná bakalářská práce je zaměřena na nový syntetický přístup k molekule léčiva Bendamustinu. Klíčovou reakcí nové syntézy Bendamustinu je Buchwald-Hartwigova reakce, kterou se do molekuly lékové substance zavádí diethylaminoethanolová skupina bez použití ethylenoxidu či 2-halogen ethanolu.

ABSTRACT

This Bachelor thesis is focused on the new synthetic approach to Bendamustin drug molecule. Buchwald-Hartwig reaction is the key reaction of the new proces which introduces diethanolamino group into drug substance without treatment with oxirane or 2-halogen ethanol.

KLÍČOVÁ SLOVA

Buchwald-Hartwigova rakce, cytostatika, leukémie, Bendamustin

KEY WORDS

Buchwald-Hartwig reaction, antineoplastic, leukemia, Bendamustin

VYSOKÁ, M. *Využití Buchwald-Hartwigove reakce v syntéze aromatických terciárních aminů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 42 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Jozefu Krajčovičovi Ph.D. a Ing. Karlu Pospíšilikovi Ph.D. za jejich čas, ochotu, rady a odborné vedení a všestrannou pomoc při řešení problémů. Dále bych ráda poděkovala Fakultě chemické za vytvoření pracovních podmínek a možnost realizovat tuto práci.

OBSAH

1	CIL PRÁCE.....	7
2	ÚVOD.....	8
3	TEORETICKÁ ČÁST.....	9
3.1	Stručná historie leukemických onemocnění	9
3.2	Typy Leukémie.....	9
3.2.1	Chronická lymfocytární leukémie (CLL)	10
3.2.2	Léčba	10
3.2.3	Alkylační cytostatika	11
3.3	Molekula Bendamustinu.....	12
3.3.1	Původní syntéza.....	13
3.3.2	Syntéza patentovaná firmou Cephalon.....	14
3.4	Buchwald-Hartwigova aminační reakce.....	17
3.5	Katalýza palladiem, rhodiem.....	18
3.6	Katalýza mědí.....	20
3.6.1	Přehled ligandů použitých při arylaci aminů Cu katalyzátory.....	21
3.7	Analytické metody	23
3.7.1	Chromatografie.....	23
3.7.2	Tenkovrstvá chromatografie (TLC).....	23
3.7.3	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)	23
3.7.4	Nukleární magnetická rezonance (NMR).....	24
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	25
4.1	Chemikálie.....	25
4.2	Seznam použitých přístrojů a analytických technik:	25
4.3	Nukleofilní aromatická substituce.....	26
4.3.1	Příprava 4-bromo- <i>N</i> -methyl-2-nitroanilinu (XVII)	26
4.3.2	Příprava 4-bromo- <i>N</i> -methyl-2-nitroanilinu (XVII)	27
4.4	Selektivní redukce nitroskupiny	28
4.4.1	Příprava 4-bromo- <i>N</i> ¹ -methylbenzen-1,2-diaminu (XVIII).....	28
4.4.2	Příprava 4-bromo- <i>N</i> ¹ -methylbenzen-1,2-diaminu (XVIII).....	29
4.5	Příprava ligandu DMPAO	30
4.5.1	Příprava ethyl [(2,6-dimethylphenyl)amino](oxo)acetátu (XXVII)	30
4.5.2	Příprava kyseliny [(2,6-dimethylphenyl)amino](oxo)octové (XXVIII).....	31

5	VÝSLEDKY A DISKUZE	32
6	ZÁVĚR.....	33
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	34
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	38
9	PŘÍLOHY	39
9.1	Použité analytické přístroje	39
9.2	Seznam sloučenin	40
9.3	Naměřená NMR spektra	41

1 CIL PRÁCE

Cílem práce je navrhnout novou syntetickou cestu Bendamustinu, která by v budoucnu odstranila nevýhody jeho dosavadních syntetických cest.

Zhodnotit uskutečnitelnost navržené cesty konfrontací s literárními údaji o podobných reakcích a na základě literárních údajů stanovit kritické stupně navržené syntézy. Laboratorně připravit intermediáty pro laboratorní odzkoušení kritického stupně syntézy Bendamustinu.

2 ÚVOD

Chronická lymfatická leukémie (CLL) je nejčastěji vyskytujícím se typem leukémie v zemích třetího světa. Riziko výskytu onemocnění CLL je jeden případ na 216 osob. Dosud používaná chemoterapeutika však často nedokážou tuto chorobu vyléčit, a tak se k léčbě CLL poslední dobou v rostoucí míře používá Bendamustin, který byl nedávno schválen též pro použití při léčení Non-Hodgkinova lymfomu.

Bendamustin byl objeven v 60. letech minulého století v bývalé NDR, kde byl zaveden do klinické praxe, a jeho aplikace byla po dlouhou dobu omezena jen na NDR a Bulharsko [1]. Teprve mnohem později se jeho použití rozšířilo na západní Německo, byl zaregistrován též FDA a v minulém desetiletí doznalo použití Bendamustinu znovupřijetí. Treanda je obchodní název, pod kterým byl Bendamustin prodáván se v roce 2014 octla na 86 místě v seznamu nejprodávanějších léčiv v USA s obratem 691 milionů USD/rok [1].

Přes rostoucí farmaceutický a komerční význam se Bendamustin stále vyrábí podle syntetického postupu z 60. let minulého století. Nedávná snaha firmy Cephalon o vylepšení syntézy však neuspěla, především kvůli problémům s kvalitou lékové substance.

Je obecně známo, že první syntéza léčiva popsaná v literatuře nebývá cestou nejefektivnější, proto se dnes spatřuje veliký potenciál v možnostech vylepšení jeho syntézy. To vše díky ohromnému rozvoji metod syntetické organické chemie, ke kterému došlo během padesáti let od zveřejnění první syntézy Bendamustinu. Především nové katalytické procesy publikované v posledních 10-20 dekáдах dávají šanci pro vyvinutí lepší, ekonomicky efektivnější cesty přípravy této molekuly.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Stručná historie leukemických onemocnění

Jako první leukémií nezávisle na sobě objevili Francouz Alfred Donné, Skoti John Hughes Bennet a David Craigie a Němec Rudolf Virchow [4]. Tito lékaři nemoc zaznamenali již před rokem 1850. V posledních letech 19. století byl objeven význam kostní dřeně pro krvetvorbu. Díky zdokonalení mikroskopu bylo možno rozeznat jednotlivé typy bílých krvinek. Tak začala nová éra hematologie (vědy o krvetvorbě a jejích chorobách). Na přelomu 19. a 20. století byl objeven lymfocyt, buňka, z níž vzniká chronická lymfocytární leukémie [4]. První léky, které byly účinné v léčbě leukémií, pomineme-li arzenik používaný od 2. poloviny 19. století, se objevily po roce 1950. Se světovými válkami došlo k náhodnému zjištění cytostatických účinků bojového, zpuchýřujícího plynu yperitu (mustard gas). Při vyšetřování havárie lodi, vezoucí tuto látku za 2. světové války, bylo zjištěno, že yperit těžce poškozuje kostní dřeň [5]. Transplantace kostní dřeně se začaly provádět v 60. letech 20. století, většího rozmachu se ale dočkaly až po roce 1980. V poslední době se do terapie leukemií dostávají i léky, které nemají charakter cytostatik (látky zastavující buněčný růst).

3.2 Typy Leukémie

Leukémie je označením pro skupinu chorob, které by se daly popsat jako „rakovina krve“. Termín vychází z řeckého slova leukos (bílý) a haima (krev). Nádorový proces v tomto případě postihuje bílé krvinky (leukocyty). Ty se v našem těle během celého života tvoří v kostní dřeni a některých dalších tkáních. Za určitých okolností se stane, že dojde k mutaci některé nezralé bílé krvinky, a ta se začne nekontrolovatelně dělit. Není-li imunitním systémem včas rozpoznána a zlikvidována, začnou se její dceřiné buňky (klony) rozšiřovat krví po celém těle.

Příčina mutace mnohdy není známa. Někdy hraje roli genetika, někdy infekce určitými viry, někdy jde o důsledek vystavení se určitým chemikáliím. Leukémie se relativně často vyskytují u dětí s Downovým syndromem.

Podle rychlosti nástupu choroby dělíme leukémie na akutní (rychlý nástup a průběh) a chronické (pomalejší nástup a průběh). Podle typu bílé krvinky, ze které choroba vychází, rozlišujeme myeloidní a lymfatické leukémie. Čtyřmi základními typy jsou jejich kombinace [5].

- Akutní myeloidní leukémie (AML)
- Akutní lymfatická leukémie (ALL)
- Chronická myeloidní leukémie (CML)
- Chronická lymfatická leukémie (CLL)

3.2.1 Chronická lymfocytární leukémie (CLL)

Chronická lymfocytární leukémie je jednou z nejčastějších lymfoidních malignit a charakterizuje ji velmi heterogenní klinický průběh. U některých pacientů onemocnění rychle progreduje, zatímco jiní přežívají desítky let bez nutnosti léčby. Vychází z nádorově změněného lymfocytu typu B, který za normálních okolností produkuje obranné protilátky. V postižené buňce vznikne chromozomální porucha či genetická mutace, která má za následek změnu vlastností buňky. Buňka ztratí své schopnosti imunitní buňky, začne se nekontrolovatelně množit a přestane reagovat na regulační mechanismy našeho organismu. Klony této buňky se postupně rozšíří po těle. Přesný důvod mutace a následné přeměny buňky na nádorovou není u CLL známý. Nemoc může postupovat různě rychle. Některé formy mohou bez léčby usmrtit pacienta do několika let, jiné formy relativně bezpříznakově trvají i desítky let a umožní nemocnému relativně kvalitní život. Jako u většiny leukémií, i u CLL je základem léčby chemoterapie. Používají se různá cytostatika a jejich kombinace [4].

3.2.2 Léčba

Chemoterapie je jednou ze základních možností léčby tohoto nádorového onemocnění. Při této léčbě jsou podávána cytostatika, což jsou léky vzniklé jako produkty chemické syntézy. Tyto léky zastavují buněčný růst a jsou podávány ve formě tablet, infuzí nebo 12 nitrožilních injekcí. Za účelem zničení nádorové buňky se cytostatika dostávají do všech tkání lidského těla krevním oběhem. Cytostatika používaná při chemoterapii nelze zacílit pouze na nádorové buňky, proto přechodně poškozují i zdravé buňky tkání. Z tohoto poškození zdravé tkáně plynou i nežádoucí účinky chemoterapie. Principem chemoterapie je tedy zničení populace nádorových buněk v těle pacienta za cenu co nejmenšího poškození zdravých tkání.

Vzhledem k typu a dávce použitého cytostatika se liší nežádoucí účinky chemoterapie. Abychom zvýšili účinek cytostatik a zároveň snížili intenzitu nežádoucích projevů jejich léčby, používáme ve většině případů kombinaci několika cytostatik. Tehdy hovoříme o kombinované cytostatické léčbě. Chemoterapie bývá podávána ve většině případů v určitých časových intervalech, kterým říkáme cykly (období mezi dvěma podáními chemoterapie). Toto období umožňuje vyloučení cytostatik z pacientova těla a regeneraci organismu tak, aby byl schopen podstoupit další léčbu. Podle typu a dávky užitých cytostatik v kombinované léčbě je chemoterapie podávána ambulantně (méně agresivní cytostatické léčebné režimy) nebo během hospitalizace [4].

Možné účinky chemoterapie:

- zabránění rozšíření nádoru
- zpomalení nádorového růstu
- zmírnění obtíží způsobených nádorem
- zničení nádoru
- vyléčení nemocného

Mechanismus účinku cytostatik:

- Inhibice syntézy nukleových kyselin
- Poškození struktury nukleových kyselin
- Alterace mikrotubulárního proteinu
- Inhibice proteosyntézy
- Kombinované účinky
- Poškození buněčné membrány

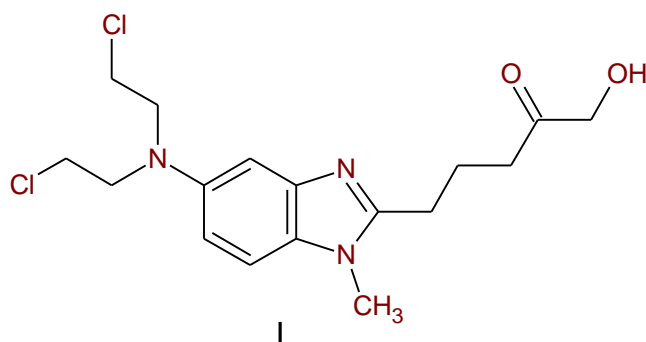
Rozdělení cytostatik podle kategorií:

- Antimetabolity
- Alkylační látky
- Protinádorová antibiotika
- Ostatní: inhibitory cyklin-dependentní kinázy
inhibitory onkogenní kinázy BCR-ABL
selektivní modulátory estrogenních receptorů
inhibitory mitózy
inhibitory topoizomerázy I
- Dimerní indolové alkaloidy

3.2.3 Alkylační cytostatika

Mezi alkylační cytostatika patří mnoho chemicky různorodých látek, jedna vlastnost je však pro všechny společná. Ve své struktuře obsahují aktivní alkylové skupiny s relativním deficitem elektronu (tzv. elektrofilní skupiny). Dojde k ataku negativně nabitě (nukleofilní) části molekuly touto elektrofilní skupinou. K aktivaci alkylačních léků dochází někdy pouhým rozštěpením molekuly ve vodném roztoku a z tohoto důvodu se často cytostatika dodávají ve formě prášku a vodou se naředí až těsně před aplikací. Alkylační látky se váží jak na nukleofilní skupiny nukleových kyselin, tak na proteiny a menší molekuly. Mohou působit v kterékoli fázi cyklického buněčného cyklu (v M fázi-mitóze, G1 fázi-při tvorbě buněčných komponent pro syntézu DNA, S fázi-při replikaci genomů DNA, G2 fázi-při tvorbě buněčných komponent pro mitózu i v klidové fázi buňky G0), mají tedy nespecifický účinek. Alkylační cytostatika mohou způsobovat dlouhodobé někdy až trvalé poškození krvetvorby a neplodnost [5].

3.3 Molekula Bendamustinu



Obrázek 1: Molekula Bendamustinu

Bendamustin (I) je molekula s kombinovanými vlastnostmi bifunkční alkylační části molekuly s 2-chlorethylaminovými skupinami a benzimidazolovou částí odpovídající anti-purinovým vlastnostem. Tato kombinace odpovídá jedinečným protinádorovým vlastnostem. Bendamustin (I) se začal používat jako protinádorový lék na počátku šedesátých let 20. století ve Východním Německu. Jako první se ujala syntézy firma Ribosepharm. Vědci Ozegowski a Krebs popsali první syntézu, podle které se Bendamustin (I) připravuje i v současnosti [1].

3.3.1 Původní syntéza

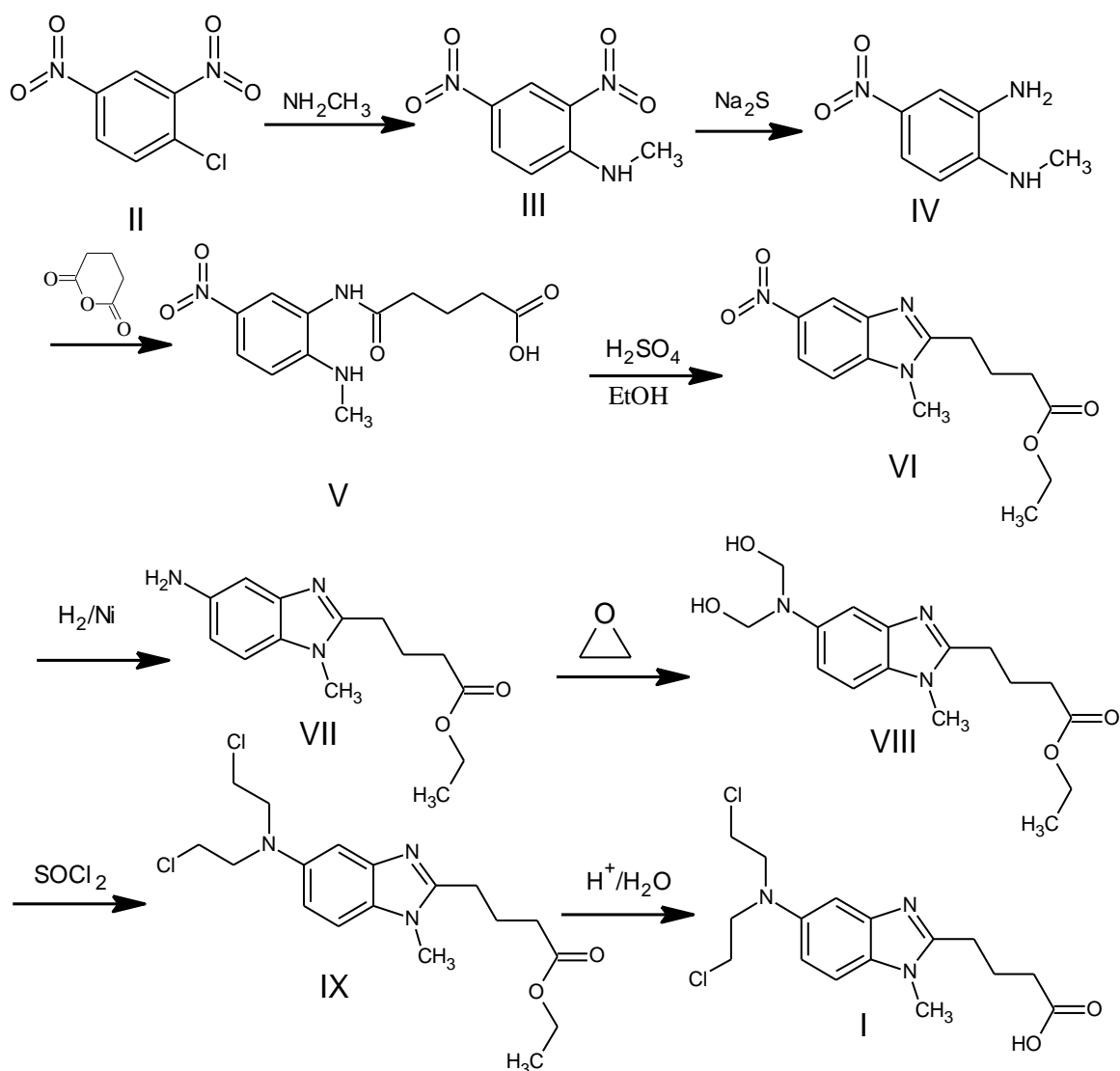


Schéma 1: Původní syntéza Bendamustinu z roku 1963 [1]

V prvním kroku (*Schéma 1*) dochází k nukleofilní aromatické substituci dinitrohalogenu (II) za dusík reakcí s methylaminem, následuje selektivní redukce nitroskupiny (III) sulfidem sodným na aminoskupinu (IV). Následuje acylace anhydridem kyseliny glutarové za vzniku amidu (V). Prostředí kyseliny sírové umožňuje cyklizaci a vytvoření imidazolového kruhu spolu s esterifikací karboxylové skupiny (VI). Poté následuje katalytická redukce druhé nitroskupiny na aminoskupinu (VII) vodíkem na Raneyově niklu. Dalším reakčním krokem je adice dvou molekul oxiranu za vzniku derivátu diethanolaminu (VIII), jehož hydroxylové skupiny jsou thionylchloridem nahrazeny chlorem a obdržený ester (IX). Finálním krokem je kyselá katalyzovaná hydrolýza poskytující Bendamustin (I).

3.3.2 Syntéza patentovaná firmou Cephalon

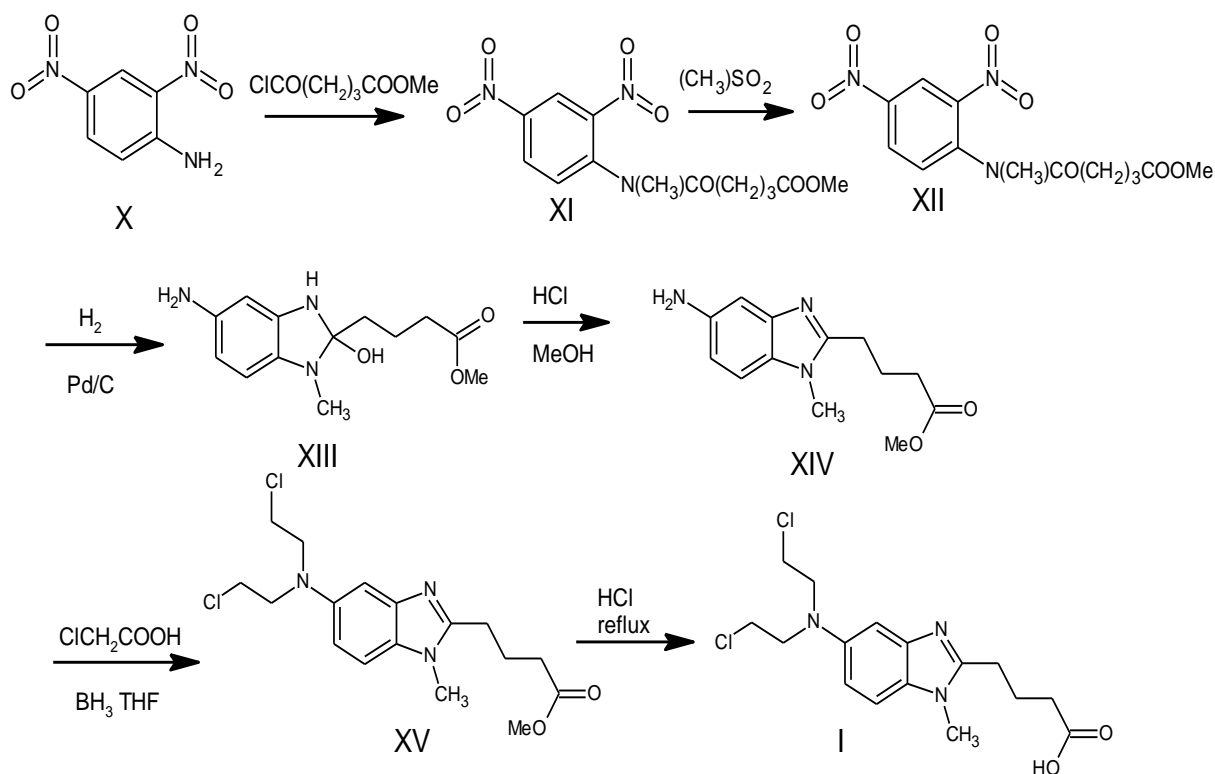


Schéma 2: Syntéza Bendamustinu podle cesty Cephalonu [6]

Původní syntéza z roku 1963 se skládá z mnoho reakčních kroků i přes fakt, že molekula Bendamustinu nepatří mezi složité organické struktury. Nevýhoda původní syntetické cesty spočívá v její nutnosti provedení několika stupňové syntézy (8 syntetických kroků) a v použití oxiranu, který je nebezpečný. Další nevýhodou je také nutnost použití hydrogenační aparatury (autoklávu), který nemusí být vždy součástí základního vybavení výrobní linky [1].

Inovací původního postupu je syntéza patentovaná firmou Cephalon [6]. Tato firma popsala nový způsob přípravy Bendamustinu (Schéma 2) založený na reduktivní alkylation aromatického aminu (XIV) chloracetaldehydem, připraveným *in situ* redukcí kyseliny chloroctové boranem. Tímto způsobem se sice vyloučí použití oxiranu a zároveň se zkrátí počet syntetických stupňů na 6, avšak zmíněná reduktivní alkylation probíhá nespecificky a výsledkem je, že takto získaný produkt je třeba čistit, aby splňoval náročné kvalitativní požadavky kladené na substance pro výrobu léčiv. Čistění surového Bendamustinu představuje manipulaci s karcinogenním Bendamustinem, který obsahuje reaktivní yperitové skupiny, což komplikuje a prodražuje purifikaci Bendamustinu. Navíc použitý boran je rovněž toxickým, hořlavým, výbušným a drahým reagentem. Rovněž manipulace s dimethylsulfátem komplikuje technické provedení syntézy, neboť toxicita dimethylsulfátu je srovnatelná s již zmíněným oxiranem.

Nově navržený postup zachovává přípravu Bendamustinu substitucí hydroxylových skupin intermediátu VIII chlorem, jak je uvedena v původním patentu, neboť tato reakce probíhá jednoznačně, je technologicky dobře zvládnuta a poskytuje produkt dostatečné čistoty.

Intermediát VIII se připraví postupem, ze kterého jsou vyloučena nebezpečná činidla a proces přípravy je zjednodušen. Způsob přípravy intermediátu VIII je založen na zavedení diethylaminové skupiny na benzenové jádro Buchwald-Hartwigovou reakcí. Návrh nové syntézy Bendamustinu znázorňuje *Schéma 3*.

Nově navržená cesta vychází z 1,4-dibromnitrobenzenu (XVI), komerčně dostupné chemikálie, který reakcí s methyloaminem poskytne 4-bromo-*N*-methyl-2-nitroanilin (XVII). Z tohoto intermediátu je možné připravit žádoucí intermediát VIII dvěma alternativami.

Podle první alternativy je XVII acylován anhydridem kyseliny glutarové na odpovídající amid XX, který je novou, dosud nepopsanou sloučeninou. Nukleofilní aromatickou substitucí bromu *N,N*-diethanolaminem, Buchwald-Hartwigovou reakcí za katalýzy mědi, se připraví klíčový intermediát přípravy Bendamustinu XXI. Nitroskupinu v tomto intermediátu je pak možno katalyticky hydrogenovat na aminoskupinu XXV a následná cyklizace poskytne derivát benzimidazolu XXII. Jeho esterifikací pak získáme požadovaný ester, intermediát VIII, který je prekursorem Bendamustinu.

Podle druhé alternativy je nitroskupina v intermediátu XVII katalyticky hydrogenována vodíkem na palladiu na intermediát XVIII, který pak reaguje s anhydridem kyseliny glutarové na amid XIX. Zahříváním v kyselém prostředí amid XIX cyklizuje na benzimidazolový derivát XXIII, jehož karboxylová skupina je esterifikována ethanolom v kyselém prostředí na ester XXIV. Nukleofilní aromatickou substitucí bromu v XXIV *N,N*-diethanolaminem, Buchwald-Hartwigovou reakcí za katalýzy mědi, se připraví prekursor Bendamustinu VIII.

Navrhované alternativy mají 7-8 syntetických stupňů, některé je možno sloučit a provést zároveň v jedné reakční baňce.

Kritickým krokem nově navrhované syntézy je Buchwald-Hartwigova reakce, kterou se připraví arylaminy. Zvládnutí této reakce je klíčové pro úspěch nové syntézy Bendamustinu a bylo by rovněž přínosem pro rozšíření možnosti použití této reakce na přípravu jiných arylaminů. Lékové substance často obsahují ve svém skeletu arylaminy. V roce 2001 bylo komerčně vyráběno více než 25 antidepresiv a 15 antipsychotik s arylaminovým uskupením [8].



3.4 Buchwald-Hartwigova aminační reakce

Po mnoho let se arylaminy připravovaly pomocí klasických metod, jako jsou například nitrace následované redukcí, alkylací, popřípadě reduktivní alkylací, anebo Ulmanovou reakcí za přítomnosti mědi při vysokých teplotách. Arylaminy se připravovaly i nukleofilní substitucí arylhalogenidů aminy, avšak tento jednoduchý způsob přípravy byl možný jen u arylhalogenidů, ve kterých je halogen aktivován silně elektronakceptorní skupinou (nitro, kyano) nacházející se v orto- či para- poloze k halogenu.

Klasické způsoby přípravy sekundárních a terciárních aminů metodou alkylací aminů často vykazují neselektivní průběh, a tím pádem poskytují směsné produkty s nízkým výtěžkem. Nukleofilní substituce reaktivních arylhalogenidů je spíše specialitou než obecnou metodou. Rostoucí počet komerčně zajímavých arylaminů vytvářel požadavek na vývoj nových, jednoduchých způsobů jejich přípravy [7].

V roce 1995 byla publikována Buchwald-Hartwigova aminační reakce [8]. Jedná se o nukleofilní substituci arylhalogenidů s primárními nebo sekundárními aminy. Výhodou této reakce je její univerzálnost i ve využití přípravy arylaminů z arylhalogenidů vykazujících velmi malou reaktivitu [8].

Při Buchwald-Hartwigově aminační reakci se vytváří kovalentní vazba mezi atomem uhlíku v arylovaném halogenu a atomem dusíku v primárním nebo sekundárním aminu v přítomnosti homogenního katalytického systému a báze. Ve srovnání s klasickými metodami nám Buchwald-Hartwigova aminace umožňuje pracovat při nižší reakční teplotě, obvykle mezi 80 a 100 °C, přičemž zpravidla poskytuje vyšší selektivitu reakce. Z těchto důvodů se tato reakce stala velmi zajímavou pro syntetické aplikace, a tak od roku 1995 se Buchwald-Hartwigova reakce intenzivně studuje.

Publikované práce v dané problematice se zabývaly studiem katalytického procesu, vlivu ligandů, báze, rozpouštědla i použitých substrátů na průběh a selektivitu nukleofilní substituce. Zároveň se objevila i řada praktických příkladů použití Buchwald-Hartwigovy reakce při syntéze léčivých substancí i v jiných vícestupňových syntézách [9].

Rostoucí význam Buchwald-Hartwigovy reakce vedl ke komerční výrobě ligandů a katalyzátorů, které je dnes možné obstarat u dodavatelů např. Sigma-Aldrich, Evonik, BASF catalysts a další [10].

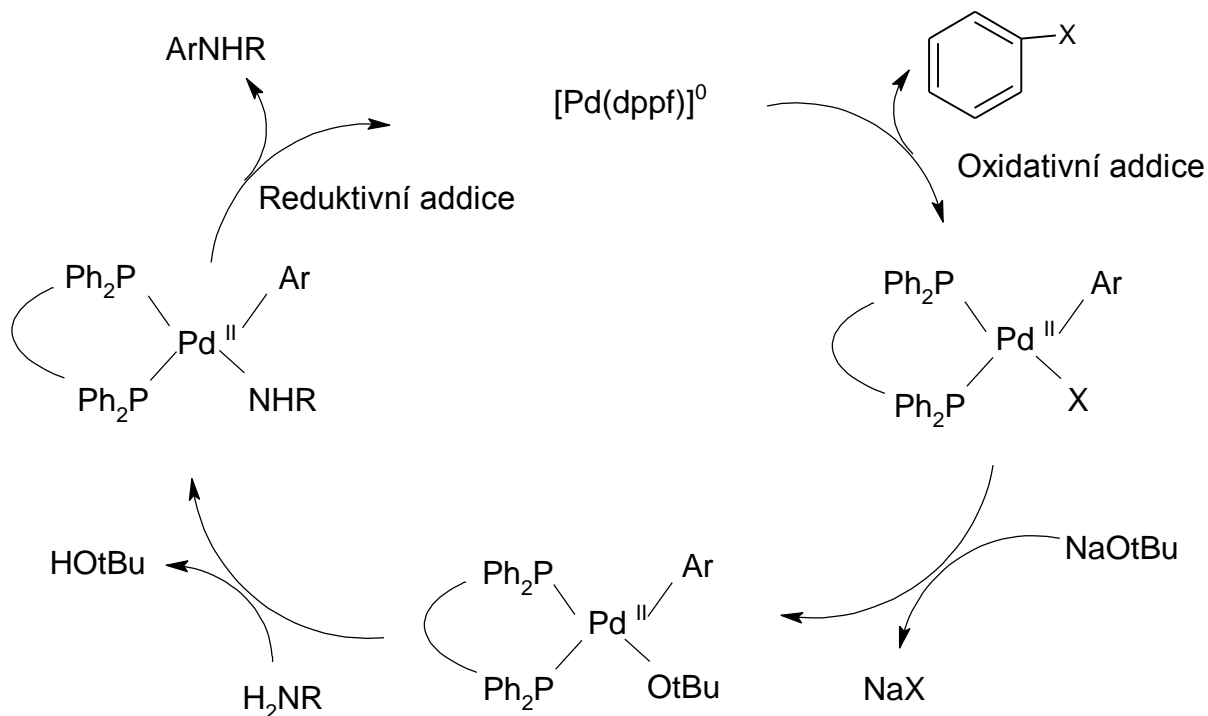
Buchwald-Hartwigova reakce je obecně katalyzována palladiem, vyskytují se však případy, kdy je možné reakci katalyzovat mědí, popřípadě rhodiem.

V současnosti je Buchwald-Hartwigova reakce velmi populární a informace o ní jsou velmi rozsáhlé, a proto je tato bakalářská práce zaměřena pouze na možnost přípravy terciárních aromatických aminů reakcí arylhalogenidů se sekundárními aminy. Jedná se o reakci, která umožní náhradu halogenu vázaného k aromatickému uhlíku sekundárním aminem.

Arylhalogenidy bez větších problémů reagují s primárními aminy. Reakce se sekundárními aminy je kvůli sterickým faktorům ztížena a příklady na reakci arylhalogenidů se sekundárními acyklickými aminy se v dostupné literatuře vyskytují poměrně zřídka.

3.5 Katalýza palladiem, rhodiem

Reakce arylhalogenidů s aminy katalyzovaná palladiem se provádí zahřátím arylbromidu či aryljodidu s aminem za přítomnosti paládiového katalyzátoru s vhodným ligandem a vhodné báze. Samotná Buchwald-Hartwigova reakce je ve skutečnosti řetěz reakcí propojených v katalytickém cyklu (Obrázek 2) [12].



Obrázek 2: Katalytický cyklus Buchwald-Hartwigovy reakce katalyzované palladiem

V prvním stupni katalytického procesu dochází k oxidativní adici arylhalogenidu na palladiový katalyzátor. Ve druhém stupni, účinkem silné báze (např *tert*-butoxidu sodného) dochází k nukleofilní substituci halogenu na palladiu. Následně dochází k opětovné nukleofilní substituci *tert*-butoxy-skupiny aminoskupinou na palladiu. Nakonec se během reaktivní eliminace uvolní arylamin a zároveň se regeneruje katalyzátor pro použití v následujícím cyklu.

Průběh katalytického cyklu tak ovlivňuje celá řada faktorů, jako jsou:

- Charakter použité báze
- Charakter odstupující skupiny
- Typ použitého ligandu
- Rozpouštědlo a reakční teplota
- Charakter reagujících komponent, arylhalogenidu či aminu a přítomnost dalších funkčních skupin v reagujících komponentách.

Jako báze se obvykle používá CS_2CO_3 , K_3PO_4 , Na_3PO_4 , *tert*-butoxid sodný či draselný a jiné alkoxidy bez β -protonů. V případě použití methoxidu sodného (isopropoxidu sodného)

dochází také k hydrogenolýze arylhalogenidu. V přítomnosti 0.5 %mol $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ + 1,5 % mol BINAP a za přítomnosti methoxidu sodného můžeme obdržet amin s uspokojivou konverzí, v případě reakce 2-bromo-1,4-dimethylbenzenu s N-methyl benzylaminem s výtěžkem okolo 70 %. Pokud se použijí sekundární alifatické aminy, dojde k hydrogenolýze arylhalogenidu, nikoliv k jeho nukleofilní substituci [12][13].

Vedle BINAP lze použít také DPPF, který s PdCl_2 při katalýze reakce 4-brombenzofenonu s N-methylanilinem poskytne produkt nukleofilní aromatické substituce s výtěžkem 87 % (THF, 100°C, 3 hodiny). Dalším ligandem použitým při katalýze palladiem je tzv. Phos. K substituci arylhalogenidu byl použit také katalyzátor palladacycle. Popsány jsou reakce arylchloridů s deriváty anilinu, reakce se sekundárními alifatickými aminy se v literatuře nevyskytuje [14].

Popsána je i kombinace palladiového katalyzátoru $\text{Pd}[\text{P}(\text{tert-Bu})_3]_2$ s katalyzátorem fázového přenosu (cetyltrimethylammonium bromidem), která při reakci p-methylchlorbenzenu s dibutylaminem (KOH, voda, 90°C, 20 h) poskytne terciární amin s výtěžkem 90 %. Katalýza fázového přenosu se používá také u katalyzátoru palladia s β -diketiminophosphanem, který je schopen katalyzovat reakci stericky stíněných aminů (2,6-dimethylanilinu) se stericky bráněnými arylchloridy.

Žádanou nukleofilní substituci arylhalogenidu aminem může komplikovat řada funkčních skupin připojených k arylhalogenidu či aminu [15].

V literatuře je popsáno také, že některé primární a sekundární aminy i aminoskupiny či hydroxylové skupiny vázané k aromatickému jádru arylhalogenidu mohou reakci zkomplikovat. Podobně obtížná může být substituce některých heterocyklických halogenidů. Specifické funkční skupiny mohou nežádoucím způsobem reagovat s přítomnou bází. Pokud se jako báze použijí Cs_2CO_3 , K_3PO_4 , může dojít k reakci substrátu s esterovou, nitrilovou i ketoskupinou. Substráty obsahující hydroxy-, amido a fenolickou skupinu se mohou vázat na palladiový katalyzátor a blokovat jeho účinnost. Proto bývají hydroxyskupiny chráněny triisopropylsilanem, terc-butyldimethylsilanem [16].

Nukleofilní substituci substrátů s hydroxyskupinou je možné uskutečnit bez ochrany hydroxyskupiny, pokud se reakce provede s LiNTMS + $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$. Takovým způsobem je možné získat produkt substituce s uspokojivým výtěžkem, i když arylhalogenid obsahuje alkoholickou, fenolickou a amidovou funkční skupinu. Obvykle se použijí více než 2 ekvivalenty LiNTMS , přičemž první ekvivalent se váže na hydroxylovou skupinu a druhý je bází při samotné reakci. Přitom dochází k silylaci hydroxyskupin, přičemž vazba Si-O je pevnější než vazba Si-N. Lithiovaný alkoxid deprotonovaného substrátu brání komplexaci s palladiem [17].

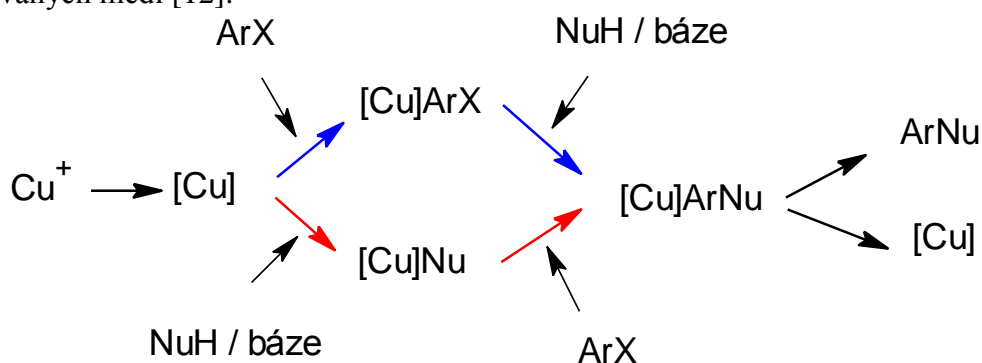
Buchwald-Hartwigova reakce se většinou provádí v organických rozpouštědlech (THF), lze ji však uskutečnit i ve vodném prostředí bez přítomnosti jiných rozpouštědel, ve vysokých výtěžcích [10][12].

Byla rovněž popsána katalýza rhodiem ve formě $\text{Rh}(\text{COD})\text{BF}_4$. V tomto případě reakce toleruje přítomnost řady funkčních skupin [18].

3.6 Katalýza mědi

V posledních letech nastal v literatuře enormní pokrok ve využití cross-kaplingových reakcí arylhalogenidů s aminy katalyzovaných mědi za mírných reakčních podmínek. Tento pokrok do značné míry závisí na použití ligandů, jako jsou například aminokyseliny, dioly, amino alkoholy, β -diketony, β -keto estery, 2-pyridinylové β -ketony, 8-hydroxychinolin-*N*-oxidy [12].

Reakční mechanismus není tak detailně popsán jako v případě katalýzy palladiem. Předpokládá se, že reakční cyklus (Obrázek 3) probíhá buď podle modré cesty, ve které oxidativní adice arylhalogenidu proběhne před nukleofilní substitucí nukleofilem (NuH), po které následuje uvolnění arylaminu a regenerace katalyzátoru nebo podle červené cesty dojde nejprve k reakci s nukleofilem následované oxidativní adicí arylhalogenidu. Dá se předpokládat, že červená je pravděpodobnější ve většině Buchwald-Hartwigových reakcí katalyzovaných mědi [12].



Obrázek 3: Dva možné způsoby arylace nukleofilů katalyzované mědi.

Průběh katalytického cyklu ovlivňuje celá řada faktorů jako je:

- Forma, ve které je měď použita
- Charakter použité báze
- Typ použitého ligandu
- Rozpouštědlo a reakční teplota
- Charakter reagujících komponent, arylhalogenidu či aminu a přítomnost dalších funkčních skupin v reagujících komponentách.

Nejčastěji je reakce katalyzovaná pomocí CuI , CuCl , Cu_2O , $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ - CuBr/Cu / Cu_2O v přítomnosti anorganických bází, K_3PO_4 , K_2CO_3 , Cs_2CO_3 a reakce se provádí v rozpouštědlech jako DMF, DMSO, voda, alkoholy a v inertní atmosféře. Problémem katalýzy mědi bývá rozpustnost katalyzátoru. Proto se někdy používá pivaloylové soli mědi. Rozpustnost katalyzátoru neurčuje automaticky jeho aktivitu. Katalyzátor může degradovat použitím silných bází, a proto se doporučuje dát přednost K_3PO_4 před KOH . V případě, že se alkyluje amid, pak pK_a báze má být nižší než pK_a amidu, pokud se báze nepřidává postupně během reakce. Přídavek vody někdy usnadní substituci [20][21].

Lze předpokládat reakci čpavku i primárních aminů s arylbromidy v přítomnosti 0,5 ekv. DMF, 0,5 ekv. Cu a v nepřítomnosti ligandu. Reakce se sekundárními aminy za těchto podmínek neprobíhají. Jako aminy se používají často α,β -aminokyseliny

s hydrofobními substituenty, rozpustné v DMSO, DME a DMF. Pokud jsou substituenty hydrofilní, lze je solubilisovat jako tetraalkylamoniové soli v dipolárním aprotickém prostředí N,N-dimethylacetamid-acetonitrilem [21].

Reakce sekundárních aminů s arylhalogenidy probíhá obtížněji a vesměs jsou popsány reakce sekundárních aminů s aryljodidy. Substituce sekundárního aminu hydroxyskupinami může substituci aryljodidem urychlit. Buchwald zjistil, že hydroxyskupina v poloze 2 k aminu urychluje arylaci aminoalkoholů v systému DMSO-voda (2:1). Přitom sledoval vliv bází i různých rozpouštědel. Za optimální ligand považoval β -ketoester. Reakce aryljodidu s primárními aminoalkoholy v přítomnosti CuI a KOH probíhá s uspokojivým výtěžkem při laboratorní teplotě, podobně probíhá s diaminy. Pokud se pro alkylaci použije arylbromid, je potřeba reakční teplotu zvýšit na 90 °C, ethanolamin reaguje s výtěžkem 99 % (s CuCl, bez ligandu a rozpouštědla). Pokud má molekula primární a sekundární aminoskupinu, pak primární reaguje rychleji [22].

Isobutyrylcyklohexanon se zdá být nejeefektivějším ligandem mědi z řady β -ketonových ligandů. S isobutyrylcyklohexanem bylo možné provést arylaci cyklického sekundárního aminu (piperidinu) s výtěžkem 90 % po 16 hodinách reakce. Pokud je v substrátu přítomna současně aromatická a alifatická aminoskupina, pak ta alifatická reaguje preferenčně. 1,10-fenantrolin s tris-O-(trifenylfosfinem) + CuBr v chloroformu umožní alkylaci difenylaminu brombenzenem za vzniku trifenylaminu. Reakce probíhají v toluenu při 110 °C po dobu 6-36 hod., s výtěžky 50-88 %. Pro arylaci difenylaminu byl rovněž použit katalyzátor Cu (PPh₃)Br. Arylace jodbenzenem probíhá dobře ve srovnání s arylbromidem, kde probíhá velmi obtížně [23].

3.6.1 Přehled ligandů použitých při arylaci aminů Cu katalyzátory

- Organické fosfany
- N-aromatické heterocykly
- trans-1,2-Diaminocyklohexan
- N,N-Dimethyl-*trans*-diaminocyklohexan
- N,N-dimethyldiaminoethan
- Ethylenglykol + dioly
- Trioly
- Racemické binoly
- N,N-dimethylsalicylamid
- β -diketony
- β -ketoestery
- Aminokyseliny
- Iminy
- Aminofosfány
- Diazofosfány
- 1,10-fenantrolin
- Fenylylhydrazon 2-hydroxybenzaldehydu
- (5,6,7,8-tetrahydrochinolin-8-yl)ethanon
- DMPAO: 2-(2,6-dimethylformylamino)-2-oxooctová kyselina

I přesto, že mechanismus arylace není zcela objasněn, ukazuje se, že ligandy obsahující bidentátní chladující centrum jsou velmi schopné koordinace s Cu^+ za tvorby pěti a šestičlenných cyklů. Jako další ligandy byly též vyzkoušeny *trans*-1,2-diaminocyklohexan a jeho deriváty. Zvláště jeho N,N'-dimethylované deriváty se prokázaly jako mnohem účinnější než ty nesubstituované. Kromě těchto N,N-bidentátních ligandů se používají N,O-bidentátní ligandy, jako třeba též N,N-dimethylaminoethanol, který se zároveň používá i jako rozpouštědlo. Primární aminoalkoholy poskytují sek. arylaminy s vysokým výtěžkem. Sekundární aminy reagují s aryljodidy [21].

K chelataci mědi se používají též O,O- bidentátní ligandy jako třeba ethylenglykol. Tento katalytický systém byl rovněž použit u alkylace 2-aminoalkoholů aryljodidy, popsány jsou i reakce s arylbromidy při 100 °C po dobu 22 hodin. Je popsán rovněž kapling 2-aminoalkoholů s bromthiofeny. Ostatní deriváty ethylenglykolu jsou vesměs horší [23].

Podobně N,O-bidentátní ligandy jako fenylylhydrazon 2-hydroxybenzaldehydu a 1-(5,6,7,8-tetrahydrochinolin-8-yl)ethanon umožňují alkylaci aminů arylbromidy při vyšší teplotě.

Za jeden z nejvýhodnějších ligandů pro arylaci sekundárních acyklických aminů se považuje 2-(2,6-dimethylfenylamino)-2-oxooctová kyselina (DMPAO), jejíž příprava je uvedena na *Schéma 4*, která je schopna zajistit arylaci 3-(methylamino)propan-1-olu v *n*-butanolu při teplotě 60-110 °C. Použije-li se jako ligand i rozpouštědlo N,N-dimethylaminoethanol, reagují za katalýzy Cu/CuI 2- a 3-bromthiofeny se sekundárními aminy [25][19].

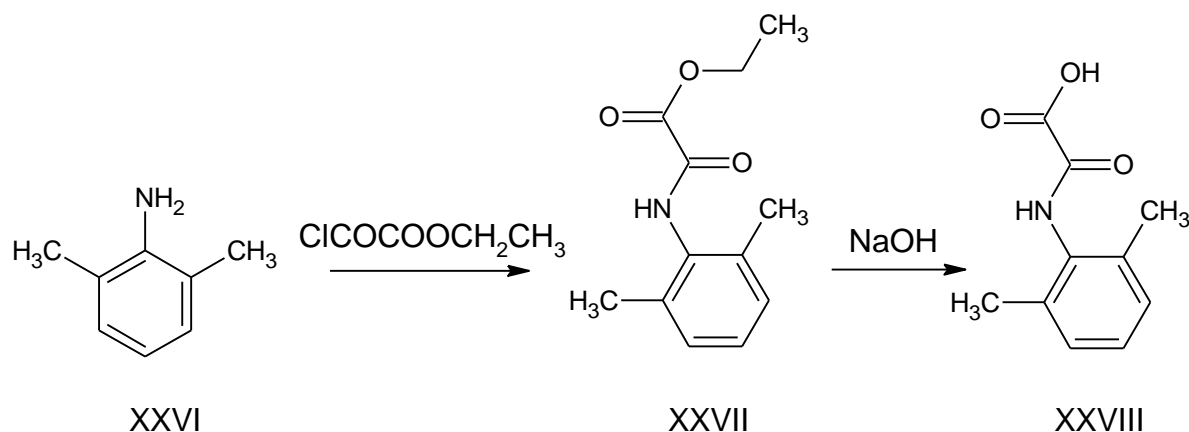


Schéma 4: Reakční schéma přípravy 2-(2,6-dimethylfenylamino)-2-oxooctové kyseliny

Buchwald-Hartwigova reakce za katalýzy mědi je velmi citlivá na sterické nároky aminu, a proto obecně sekundární aminy dávají horší výsledky, přičemž sekundární cyklické aminy třeba piperidin, které mají menší sterické nároky, reagují snadněji.

3.7 Analytické metody

V průběhu experimentu byla využita řada analytických metod. Z důvodu rychlosti a citlivosti analýzy byly využity zejména chromatografické metody. Dále byla využita NMR spektroskopie pro identifikaci molekuly.

3.7.1 Chromatografie

Mezi nejrozšířenější separační metody patří chromatografie, umožňující účinnou separaci látek nutnou pro spolehlivou identifikaci a kvantifikaci složek neznámého vzorku. Látky se dělí na základě jejich různé afinitě k fázi: *stacionární* (zakotvené) a *mobilní* (pohyblivé). Různé látky se liší v hodnotách rozdělovacích koeficientů, adsorpčních vlastnostech, ve svých rozměrech či ve svých nábojích, což lze vše využít v chromatografii k jejich rozdělování na vhodném chromatografickém zařízení. Mobilní fázi bývá kapalina či plyn a stacionární fázi pak může být pevná látka (papír, SiO_2 , Al_2O_3) ale i kapalná fáze zakotvená na pevném nosiči. Z hlediska provedení uspořádání chromatografického zařízení dělíme chromatografii na plošnou a sloupcovou, z hlediska určujícího mechanismu dělení látky mezi stacionární a mobilní fázi pak chromatografii adsorpční, rozdělovací, iontově výměnnou a další [26].

3.7.2 Tenkovrstvá chromatografie (TLC)

Tenkovrstvá chromatografie patří mezi plošné chromatografie a je velmi rychlá a účinná metoda využívaná v mnoha oborech, zejména biochemie. V organické syntéze se používá k vyhodnocení průběhu reakce. Vzorek se ve velmi malém množství (μl) nanáší na začátek vrstvy (start) společně se standardy pro porovnání. Po zaschnutí nanesených vzorků se vrstva vloží do vyvíjecí komory s vhodnou směsí rozpouštědel (mobilní fáze) tak, aby startovní linie byla nad hladinou, a komora se uzavře. Po dosažení konce (cíle) se tenká vrstva vyjme z vyvíjecí komory. Identifikace vzorku je možná během několika desítek sekund [27].

V současnosti již existuje modifikovaná forma HPTLC. Modifikace spočívá zejména v automatickém nanášení přesných a stejných objemů vzorků přístrojem a tím eliminaci chyby při dávkování. Průtok mobilní fáze je zajištěn pumpou. Výsledkem je přesnější a reprodukovatelná analýza.

3.7.3 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie používá jako mobilní fáze látky kapalně. Stacionární fázi pak může být buď tuhá látka, nebo kapalina ukotvena na tuhém nosiči. Stacionární fáze je ukotvena v chromatografické koloně ve formě sorbentu. Tímto sorbentem protéká mobilní fáze. Mezi nejčastější uspořádání kapalinové chromatografie patří právě HPLC. Při tomto uspořádání je mobilní fáze přiváděna do systému pomocí čerpadla za vysokého tlaku.

Díky fázovému rozhraní je umožněna distribuce látek mezi stacionární a mobilní fází. Při dělení látek pak dochází k opakovanému ustálení rovnováhy dělených látek mezi mobilní a stacionární fází.

Separace a eluce jednotlivých složek směsi je ovlivněna jak povahou stacionární fáze, tak povahou mobilní fáze. Při použití izokratické eluce mobilní fáze hovoříme o konstantním složení mobilní fáze, a naopak při gradientové eluci mobilní fáze se její složení během eluce programově mění ve prospěch silnější eluční složky. Izokratická eluce je vhodná pro dělení látek s podobnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Naopak, gradientová eluce se uplatňuje při dělení látek s výrazně odlišnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi.

Separované zóny analytů vycházející z kolony jsou zaznamenány při průchodu detektorem a signál je převeden do podoby chromatografického záznamu, který je nazýván chromatogram (časová závislost intenzity veličiny, která je sledována detektorem). Charakteristickými křivkami chromatografického záznamu jsou eluční křivky (píky), které mají gausovský tvar [28][29].

3.7.4 Nukleární magnetická rezonance (NMR)

Nukleární magnetická rezonance je analytická metoda založena na interakci magneticky aktivních jader umístěných v silném magnetickém poli s elektromagnetickým zářením v oblasti radiových vln. Vlivem chemického okolí a vzájemných interakcí sledovaných jader dochází k charakteristickým posunům a štěpením jejich signálů ve spektru. Výsledná spektra je potom možné interpretovat ve smyslu struktury sledované molekuly nebo jejích částí [30].

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část se zabývá přípravou 4-bromo-*N*-methyl-2-nitroanilinu (XVII) nezbytného pro přípravu 4-bromo-*N*¹-methylbenzen-1,2-diaminu (XVIII), jakožto výchozího intermediátu pro přípravu molekuly Bendamustin. Další část je věnována přípravě [(2,6-dimethylfenyl)amino](oxo)acetátu (XXVII) a z něj požadovaného ligandu [(2,6-dimethylfenyl)amino](oxo)octové kyseliny (XXVIII) nezbytného pro uskutečnění Buchwald-Hartwigovy reakce.

4.1 Chemikálie

Penta: Dichlormethan, Ethanol, Ethylacetát, Hydroxid sodný, Kyselina chlorovodíková, Kyselina octová, Síran sodný- bezvodý, Tetrahydrofuran, Uhličitan sodný

Sigma-Aldrich: 2,6-Dimethylanilin, 2,5- dibromnitrobenzen, Ethyl-chlorooxoacetát, Chlorid železitý- bezvodý, Methylamin hydrochlorid, Methylamin-30% vodný roztok, Pt/C katalyzátor, Triethylamin

4.2 Seznam použitých přístrojů a analytických technik:

HPLC-ULTIMATE 3000, DAD detektor, Stacionární fáze C₁₈ kolona (reverzní fáze), Mobilní fáze ACN:H₂O 80:20 izokraticky, průtok 0,5 ml/min, teplota kolony 30 °C

Kolonová chromatografie-Silikagel 60 (220-440 mesh)

TLC-Destičky Supelco, detektor UV lampa 254 nm

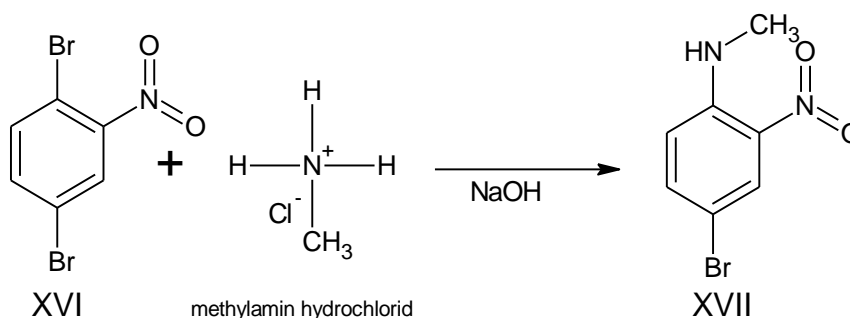
NMR-Bruker Shield 300 MHz, chemický posun je uváděn v ppm, vztahující se na signál

Me₄Si 0,00 ppm), pro reziduální signál rozpouštědla bylo použité referenční rozpouštědlo CDCl₃ δ 7,26 ppm

4.3 Nukleofilní aromatická substituce

Nukleofilní substituce patří mezi běžné syntetické reakce a je mnohostranně využívaná v organické chemii. Reakce 2,5-dibromnitrobenzenu (XVI) s metylaminem probíhá za podmínek nukleofilní aromatické substituce, adičně-eliminačním mechanismem. Meziprodukty těchto reakcí jsou stabilní soli nazvané Meisenheimerovy (Jacksonovy-Meisenheimerovy) komplexy. Největší energetický podíl na tomto mechanismu má tvorba meziprojektu, kdy je současně vázán jak nukleofil, tak substituent, kterým je velmi často halogen [31].

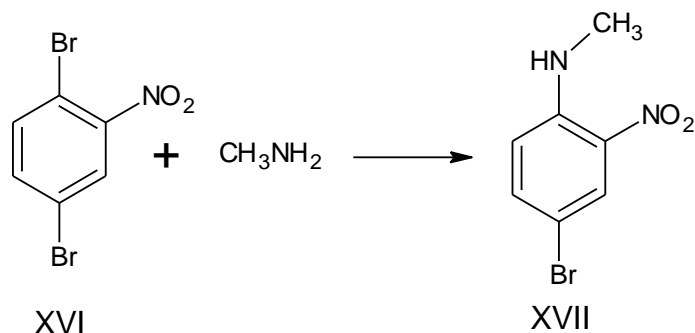
4.3.1 Příprava 4-bromo-*N*-methyl-2-nitroanilinu (XVII)



6,5 g (23,11 mmol) XVI bylo naváženo do suché tříhrdlé baňky s magnetickým míchadlem, teploměrem a zpětným chladičem. Poté bylo přidáno 6 ml destilované vody, po rozpuštění celé směsi byly přidány 3 g (10,68 mmol) methylaminu hydrochloridu a 4 ml ethanolu. Po rozpuštění byla celá směs ochlazená na 10 °C v ledové lázni (drcený led + voda) a do směsi se následně přidalo 3,8 g (95 mmol) hydroxidu sodného rozpuštěného ve 4 ml destilované vody. Teplota reakční směsi se během dávkování roztoku NaOH (3 min.) udržovala v rozmezí 5-10 °C. Následně se reakční směs zfiltrovala na aparatuře pro filtraci za sníženého tlaku. Výsledný produkt se sušil na vzduchu při teplotě 23 °C, 18 h

Výtěžek: 2.9 g (117 %), krystalické látky, oranžové barvy, bod tání 81-83 °C, teplota odpovídá čisté výchozí látce (XVI) [33].

4.3.2 Příprava 4-bromo-*N*-methyl-2-nitroanilinu (XVII)



85 ml 30% vodného methylaminu bylo předloženo do 160 ml tlakové nádoby. Následně bylo přidáno 35 g (124,6 mmol) XVI a 25 ml ethanolu. Tlaková nádoba byla pevně uzavřena a reakční směs se míchala při 100°C po dobu 24 h. Po tomto čase byla tlaková nádoba ochlazená a reakční směs byla přenesena do čisté 500 ml kádinky. Ke směsi bylo přidáno 200 ml destilované vody, směs byla míchaná po dobu 30 min. Vzniklý precipitát byl odfiltrován a promyt vodou. Produkt byl sušen při 23°C, 24 h.

Výtěžek: 17,2 g (59,75 %) krystalické látky tmavě červené barvy, jejíž bod tání se pohybuje v rozmezí od 102,2 °C do 104,2 °C [32].

TLC analýza: eluent: EtOH: heptan (100:5)

R_f produktu: 0,87

eluent: toluen: EtOH (100:2)

R_f výchozí látky: 0,50

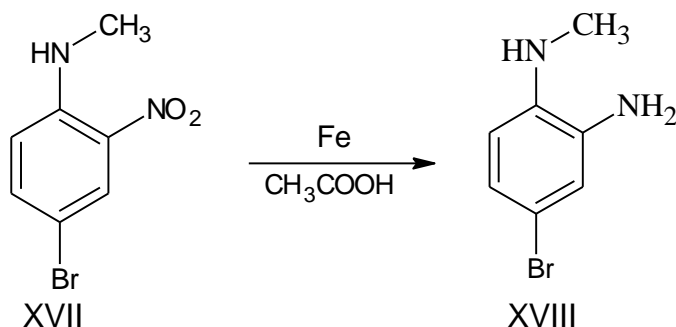
R_f produktu: 0,25

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 8,32 (s, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,53 (d, *J* = 9,2, 1H), 6,76 (d, *J* = 9,2, 1H), 3,01 (m, 3H)

4.4 Selektivní redukce nitroskupiny

Výsledkem úplné redukce nitroskupiny je aminoskupina. Redukce nitroskupiny se provádí buď v kyselém prostředí působením železa, cínu a zinku v prostředí kyseliny chlorovodíkové, nebo v zásaditém prostředí působením zinku a hydroxidu sodného, ale také katalytickou redukcí nitrobenzenu plynným vodíkem na palladiovém či platinovém katalyzátoru [31].

4.4.1 Příprava 4-bromo-*N*¹-methylbenzen-1,2-diaminu (XVIII)



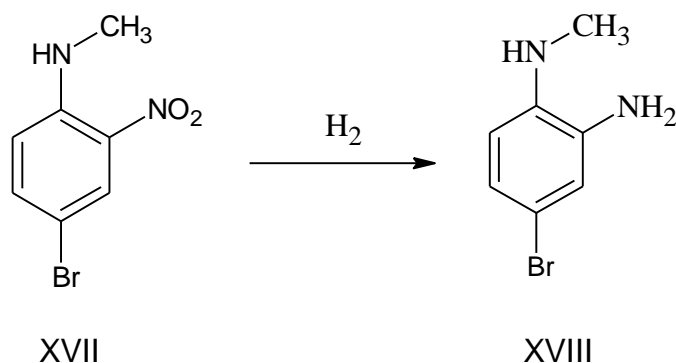
20 ml etanolu bylo odměřeno do 250 ml tříhrdlé baňky s chladičem, dále bylo přidáno 2,5 ml 99,8% kyseliny octové. Následně byly ke směsi přidány 3 g (12,98 mmol) XVII a reakční směs byla míchána a zahřívána k bodu varu. Po nějaké době bylo přidáno 5,2 g (3,2 mmol) bezvodého chloridu železitého. Směs byla refluxována asi 12 hodin. Po tomto čase se reakční směs ochladila na teplotu 23 °C a přidalo se 50 ml etanolu a směs byla zfiltrována, vysušena, promyta ethanolem a analyzována na TLC.

Výtěžek: 2,5 g (95,8 %) černého lepkavého materiálu.

TLC analýza: eluent: dichlormethan

R_f produktu: 0,28

4.4.2 Příprava 4-bromo-*N*¹-methylbenzen-1,2-diaminu (XVIII)



1,0 g (4,61 mmol) XVII bylo naváženo do 100 ml baňky, následně bylo přidáno 5 ml etanolu a 10 % mol 10 % Pt/C katalyzátoru. Reakční směs byla míchána za přístupu vodíku při atmosférickém tlaku a za laboratorní teploty. Po 8 hodinách bylo do reakční směsi přidáno dalších 5 % mol 10 % Pt/C katalyzátoru a směs byla opět míchána v atmosféře vodíku po dobu 8 hodin. V dalším kroku byla reakční směs zfiltrována a rozpouštědlo bylo odstraněno pomocí vakuové rotační odparky.

Výtěžek: 0,79 g (85,3 %) černého lepkavého materiálu XVIII.

TLC analýza: eluent: dichlormethan: EtOH (5:1)

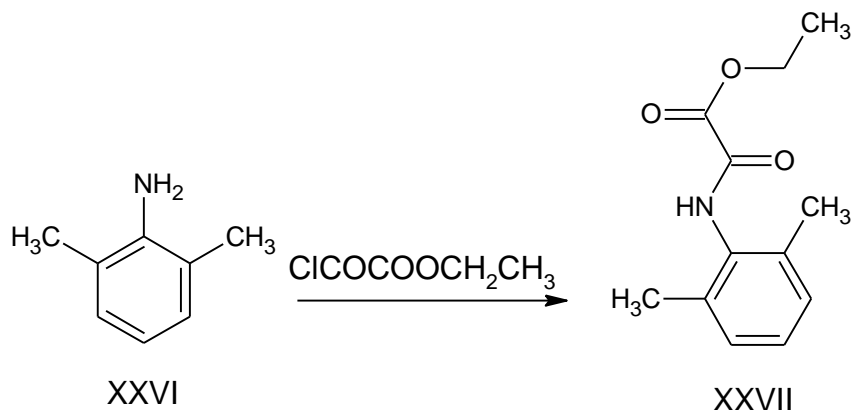
R_f produktu: 0.79

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 6,93 (d, *J* = 8,4, 1H), 6,83 (m, 1H), 6,56 (d, *J* = 8,4, 1H), 2,85 (m, 3H)

4.5 Příprava ligandu DMPAO

Za jeden z nejvýhodnějších ligandů pro arylaci sekundárních acyklických aminů se považuje 2-(2,6-dimethylfenylamino)-2-oxooctová kyselina (DMPAO) [12][19].

4.5.1 Příprava ethyl [(2,6-dimethylphenyl)amino](oxo)acetátu (XXVII)

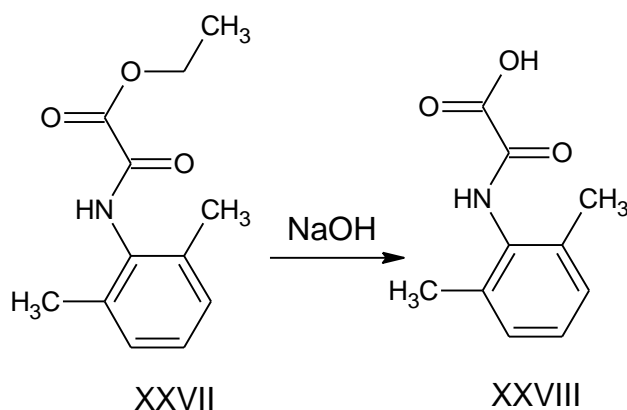


12,4 ml 2,6-Dimethylanilinu bylo rozpuštěno ve 200 ml dichlormetanu a k roztoku bylo přidáno 14,5 ml triethylaminu. Následně se k roztoku po dobu 45 min přikapával roztok 11 ml ethyl chlorooxoacetátu ve 200 ml dichlormethanu. Reakční teplota se během přidavku pohybovala v rozmezí 30-35 °C. Vzniklý žlutý roztok byl míchán po dobu 45 minut při laboratorní teplotě a následně byl vytřepán roztokem 4 ml 36 % HCl rozpuštěné v 50 ml vody. Organická fáze byla vytřepána roztokem 2,0 g (18,87 mmol) uhličitanu sodného rozpuštěného v 50 ml vody, směs byla promyta přidáním 50 ml vody. V dalším kroku byla organická fáze vysušena bezvodým síranem sodným, sušící činidlo bylo odfiltrováno a filtrát odpařen na žlutý olej. Ten byl smísen s 19 ml diethyletheru a míchán na lázni led-voda po dobu 30 minut. Vyloučené krystalky byly odfiltrovány, promyty diethyletherem a vysušeny na vzduchu. Bylo získáno 18,9 g produktu o bodu tání 74,5-76,0 °C.

Meziprodukt XXVII byl připraven s výtěžkem 81,7 %

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 8,38 (s, 1H), 7,18-7,08 (m, 3H), 4,47-4,40 (m, 2H), 2,25 (s, 6H), 1,45 (t, *J* = 7,2, 3H)

4.5.2 Příprava kyseliny [(2,6-dimethylphenyl)amino](oxo)octové (XXVIII)



5,0 g (22,6 mmol) XVII bylo rozpuštěno ve 12 ml tetrahydrofuranu na nažloutlý roztok. K tomuto roztoku byl přidán roztok 0,9 g (22,5 mmol) hydroxidu sodného rozpuštěného v 11 ml vody. Teplota vzrostla na 32 °C, roztok se odbarvil a po několika minutách se začaly vylučovat bílé krystaly. Směs byla míchána 2 hodiny při laboratorní teplotě. Bílé krystaly byly odfiltrovány a obdrželo se 3,8 g krystalů, které byly ponechány k dalšímu zpracování. Filtrát byl dvakrát extrahován 20 ml ethylacetátu. Vodná fáze byla okyslena a třikrát extrahována 20 ml ethylacetátu. Spojené ethylacetátové extrakty byly sušeny bezvodým síranem sodným, sušící činidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na rotační vakuové odparce a poskytl 1,77 g bílých krystalů s bodem tání 170,0-171,8 °C.

3,8 g krystalů bylo smíseno s 10 ml destilované vody, 10 ml ethylacetátu a 10 ml 1 M HCl. Směs byla míchána, dokud se pevná fáze nerozpustila. Fáze byly odděleny a vodná fáze byla dvakrát extrahována 20 ml ethylacetátu. Spojené ethylacetátové extrakty byly sušeny bezvodým síranem sodným, sušící činidlo bylo odfiltrováno a filtrát byl odpařen na rotační vakuové odparce a poskytl 1,6 g bílých krystalů s bodem tání 173,6-177,8 °C.

Kyselina [(2,6-dimethylfenyl)amino](oxo)octová (XXVIII) byla připravena s celkovým výtěžkem 77 %.

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 8,55 (s, 1H), 7,21-7,11 (m, 3H), 2,24 (s, 6H)

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

I přes všechny inovace a objevy v oblasti organické syntézy se výroba Bendamustinu stále opírá o původní syntézu z roku 1963. Tato technologie je procedurálně náročná, sestává z 8 syntetických stupňů a zahrnuje reakci s oxiranem v autoklávu. Oxiran je nebezpečná, vysoce jedovatá, karcinogenní, hořlavá a výbušná látka. Autokláv potřebný k syntéze nemusí být vždy součástí souboru na výrobu finálního produktu v režimu správné výrobní praxe.

Proto byla vypracována rešerše zaměřená na hledání nových výhodnějších alternativ přípravy cílového léčiva. V rámci navržené syntetické alternativy byly odzkoušené syntetické kroky vedoucí k přípravě intermediátu, který za podmínek Buchwald-Hartwigove reakce poskytne klíčový synthon k přípravě Bendamustinu.

Byla uskutečněná syntéza 4-bromo-*N*-methyl-2-nitroanilinu (XVII), která vychází z 1,4-dibromnitrobenzenu (XVI) reakcí s methylamin hydrochloridem. Výhodnější alternativou přípravy (XVII) je reakce 1,4-dibromnitrobenzenu s methylaminem v prováděná v autoklávu při 100 °C po dobu 24 hodin. Cílený produkt (XVII) byl připraven s výtěžkem téměř 60 %.

V následujícím syntetickém kroku je možné 4-Bromo-*N*-methyl-2-nitroanilin (XVII) v autoklávu hydrogenovat na 4-bromo-*N*-methyl-2-aminoanilin (XVIII) za katalýzy Pt/C v ethanolu při laboratorní teplotě. Platinový katalyzátor byl zvolen pro to, aby se potlačila hydrogenolýza bromu. Byl získán olejovitý meziprodukt produkt. Redukce nitroskupiny železem v kyselině octové či chloridem cínatým probíhá pomalu a obdržený amin je znečištěn meziproducty redukce a izolace aminu z reakční směsi je komplikovaná. Katalytický proces je neúčinnější.

Byla rovněž připravena 2-(2,6-dimethylfenylamino)-2-oxooctová kyselina (XXVIII) reakcí 2,6-dimethylfenylanilinu s ethyl oxalylchloridem (XXVII) a získaný meziprodukt byl hydrolyzován na žádanou kyselinu (XXVIII). Bod tání DMPAO (XXVIII) odpovídá údajům uvedeným v literatuře [12][25].

6 ZÁVĚR

Chronická lymfatická leukémie je nádorovým onemocněním, které postihuje převážně pacienty ve vyšším věku. Muži jsou tímto onemocněním postiženi dvakrát častěji než ženy. Zvláštnost chronické lymfatické leukémie je, že na rozdíl od jiných druhů leukémie u ní nelze najít zevního činitele, který ji může způsobit. Projevem poruchy funkce imunitního systému jsou často dlouhodobě přetrvávající a stále se opakující infekční onemocnění, která pacienta sužují i přes dobře vedenou protiinfekční léčbu. Základem léčby je chemoterapie, i když v současnosti se do léčby chronické lymfatické leukémie dostávají i jiné léky, které nemají charakter cytostatik.

V posledních letech se při chemoterapii leukémie ve zvýšené míře používá Bendamustin, lék známý od roku 1963. Tato skutečnost vede k úsilí o vylepšení původní technologie výroby Bendamustinu takovým způsobem, aby byly odstraněny některé nevýhody dosud popsanych syntetických postupů. Především, aby se z výroby vyloučily nebezpečné reagenty, jako je oxiran či dimethylsulfoxid a ve finálních krocích syntézy odpadla potřeba autoklávu. Navrhovaný postup, založený na Buchwald-Hartwigově reakci, umožňuje jednoduchým způsobem zavést diethylaminoethanolovou skupinu bez použití oxiranu či 2-bromethanolu.

V experimentální části byl připraven a identifikován intermediát XVII, který byl dále použit pro syntézu intermediátu XVIII, jehož příprava proběhla podle předem předpokládaných výsledků na základě dřívější literární studie. Byl rovněž připraven ligand (XXVIII) pro Buchwald-Hartwigovou reakci katalyzovanou CuI.

V budoucnu se bude pokračovat v syntéze a optimalizaci jednotlivých intermediátů přípravy Bendamustinu s ohledem na možné využití syntetické procedury v praxi.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] W. Ozegowski, D. Krebs: ω -[Bis-(β -chloräthyl)-amino-benzimidazolyl-(2)]-propion- bzw. -buttersäuren als potentielle Cytostatika. In: *J Prakt Chem.* Band 20, Nummer 3-4, 1963, S. 178-186. doi:10.1002/prac.19630200310
- [2] GLODE, Ashley E a Anthony JARKOWSKI. Bendamustin: A New Treatment Option for Chronic Lymphocytic Leukemia. *Pharmacotherapy.* 2009, vol. 29, issue 11, s. 1375-1384. DOI: 10.1592/phco.29.11.1375. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1592/phco.29.11.1375>
- [3] Top 100 Most Prescribed, Top Selling Drugs. Medscape. May 13, 2014.
- [4] PALÁSEK, Ivo. *Chronická lymfatická leukémie: informace pro pacienty a jejich blízké.* 1. vyd. Ilustrace Michael Doubek. Brno: Masarykova univerzita, 2003, 19 s. ISBN 80-210-3272-3.
- [5] MAYER, Jiří a Jan STARÝ. *Leukémie.* 1. vyd. Praha: Grada, 2002, 357 s., [32] s. obr. příl. ISBN 80-716-9991-8.
- [6] CEPHALON, Inc. Processes for the preparation of Bendamustin [patent]. Application, PCT/US2009/059765. Uděleno 8 Oct 2008. Zapsáno 7 Oct 2009.
- [7] Smith, M. B.; March, J. *March's Advanced Organic Chemistry*; John Wiley & Sons Inc: USA, 2001.
- [8] *Organic Process Research.* 2006, vol. 10, issue 4. ISSN 1083-6160. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/op050226s>
- [9] Hartwig, J. *Angewandte Chemie, International Edition* **1998**, 37, 2046-2067.
- [10] HARTWIG, John F., Xinye YANG, Qizheng YAO a Dawei MA. Evolution of a Fourth Generation Catalyst for the Amination and Thioetherification of Aryl Halides. *Accounts of Chemical Research.* 2008-11-18, vol. 41, issue 11, s. 1534-1544. DOI: 10.1021/ar800098p. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ar800098p>
- [11] JIAO, Jiao, Xi-Ru ZHANG, Ning-Hui CHANG, Jie WANG, Jun-Fa WEI, Xian-Ying SHI a Zhan-Guo CHEN. A Facile and Practical Copper Powder-Catalyzed, Organic Solvent- and Ligand-Free Ullmann Amination of Aryl Halides. *The Journal of Organic Chemistry.* 2011-02-18, vol. 76, issue 4, s. 1180-1183. DOI: 10.1021/jo102169t. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jo102169t>

- [12] MARION, Nicolas, Oscar NAVARRO, Jianguo MEI, Edwin D. STEVENS, Natalie M. SCOTT a Steven P. NOLAN. Modified (NHC)Pd(allyl)Cl (NHC=N -Heterocyclic Carbene) Complexes for Room-Temperature Suzuki–Miyaura and Buchwald–Hartwig Reactions. *Journal of the American Chemical Society*. 2006, vol. 128, issue 12, s. 4101-4111. DOI: 10.1021/ja057704z. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja057704z>
- [13] PRASHAD, Mahavir, Bin HU, Yansong LU, Robert DRAPER, Denis HAR, Oljan REPIČ a Thomas J. BLACKLOCK. B-Hydrogen-Containing Sodium Alkoxides as Suitable Bases in Palladium-Catalyzed Aminations of Aryl Halides. *The Journal of Organic Chemistry*. 2000, vol. 65, issue 8, s. 2612-2614. DOI: 10.1021/jo991949a. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jo991949a>
- [14] B.L. Deng and others, "Synthesis of 7-vinylflavone and 7-aminoflavone by palladium-catalyzed coupling reactions", *EUR J ORG C*, (10), 1999, pp. 2683-2688
- [15] COLEMAN, Robert S. a Wei CHEN. A Convergent Approach to the Mitomycin Ring System. *Organic Letters*. 2001, vol. 3, issue 8, s. 1141-1144. DOI: 10.1021/ol0156244. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol0156244>
- [16] LAKSHMAN, Mahesh K., John C. KEELER, John H. HILMER a Jocelyn Q. MARTIN. Palladium-Catalyzed C–N Bond Formation: Facile and General Synthesis of N 6 -Aryl 2'-Deoxyadenosine Analogues. *Journal of the American Chemical Society*. 1999, vol. 121, issue 25, s. 6090-6091. DOI: 10.1021/ja9908671. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja9908671>
- [17] HARRIS, Michele C., Xiaohua HUANG, Stephen L. BUCHWALD a Jocelyn Q. MARTIN. Improved Functional Group Compatibility in the Palladium-Catalyzed Synthesis of Aryl Amines: Facile and General Synthesis of N 6 -Aryl 2'-Deoxyadenosine Analogues. *Organic Letters*. 2002, vol. 4, issue 17, s. 2885-2888. DOI: 10.1021/ol0262688. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol0262688>
- [18] ZHANG, Min, Weiping TANG, Stephen L. BUCHWALD a Jocelyn Q. MARTIN. Synthesis of Functionalized Cyclohexenone Core of Welwitindolinones via Rhodium-Catalyzed [5 1] Cycloaddition: Facile and General Synthesis of N 6 -Aryl 2'-Deoxyadenosine Analogues. *Organic Letters*. 2012-07-20, vol. 14, issue 14, s. 3756-3759. DOI: 10.1021/ol301614v. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol301614v>

- [19] ZHANG, Yu, Xinye YANG, Qizheng YAO a Dawei MA. CuI/DMPAO-Catalyzed N -Arylation of Acyclic Secondary Amines. *Organic Letters*. 2012-06-15, vol. 14, issue 12, s. 3056-3059. DOI: 10.1021/ol301135c.
Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol301135c>
- [20] WOLF, Christian, Shuanglong LIU, Xuefeng MEI, Adam T. AUGUST a Michael D. CASIMIR. Regioselective Copper-Catalyzed Amination of Bromobenzoic Acids Using Aliphatic and Aromatic Amines: Facile and General Synthesis of N 6 -Aryl 2'-Deoxyadenosine Analogues. *The Journal of Organic Chemistry*. 2006, vol. 71, issue 8, s. 3270-3273. DOI: 10.1021/jo060034a.
Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jo060034a>
- [21] LU, Zhikuan, Robert J. TWIEG, Xuefeng MEI, Adam T. AUGUST a Michael D. CASIMIR. Copper-catalyzed aryl amination in aqueous media with 2-dimethylaminoethanol ligand: Facile and General Synthesis of N 6 -Aryl 2'-Deoxyadenosine Analogues. *Tetrahedron Letters*. 2005, vol. 46, issue 17, s. 2997-3001. DOI: 10.1016/j.tetlet.2005.03.027.
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040403905005149>
- [22] SHAFIR, Alexandr, Stephen L. BUCHWALD, Xuefeng MEI, Adam T. AUGUST a Michael D. CASIMIR. Highly Selective Room-Temperature Copper-Catalyzed C-N Coupling Reactions: Facile and General Synthesis of N 6 -Aryl 2'-Deoxyadenosine Analogues. *Journal of the American Chemical Society*. 2006, vol. 128, issue 27, s. 8742-8743. DOI: 10.1021/ja063063b.
Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja063063b>
- [23] GUJADHUR, Rattan, D VENKATARAMAN, Jeremy T KINTIGH, Adam T. AUGUST a Michael D. CASIMIR. Formation of aryl • nitrogen bonds using a soluble copper(I) catalyst: Facile and General Synthesis of N 6 -Aryl 2'-Deoxyadenosine Analogues. *Tetrahedron Letters*. 2001, vol. 42, issue 29, s. 4791-4793. DOI: 10.1016/S0040-4039(01)00888-7.
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040403901008887>
- [24] KWONG, Fuk Yee, Artis KLAPARS, Stephen L. BUCHWALD, Adam T. AUGUST a Michael D. CASIMIR. Copper-Catalyzed Coupling of Alkylamines and Aryl Iodides: An Efficient System Even in an Air Atmosphere. *Organic Letters*. 2002, vol. 4, issue 4, s. 581-584. DOI: 10.1021/ol0171867.
Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol0171867>

- [25] MA, Dawei, Qian CAI, Hui ZHANG, Dawei MA, Jun-Fa WEI, Xian-Ying SHI a Zhan-Guo CHEN. Mild Method for Ullmann Coupling Reaction of Amines and Aryl Halides. *Organic Letters*. 2003, vol. 5, issue 14, s. 2453-2455. DOI: 10.1021/ol0346584. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol0346584>
- [26] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-863-6907-2.
- [27] GASPARIČ, Jiří. Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin: Laboratorní příručka. 1. vyd. Praha: SNTL, 1981, 320 s.
- [28] NOVÁKOVÁ, Lucie. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. 1. vyd. Praha: Lucie Nováková, 2013, 299 s. . ISBN 978-80-260-4243-3."
- [29] NOVÁKOVÁ, Lucie. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. 1. vyd. Praha: Lucie Nováková, 2013, 235 s. ISBN 978-80-260-4244-0.
- [30] SCHRAML, Jan. Dvourozměrná NMR spektroskopie. 1. vyd. Praha: Academia, 1987. 130 s.
- [31] SOLOMONS, T, Craig B FRYHLE a S SNYDER. *Organic chemistry*. 11th edition. xxxvi, 1139, [25] pages. ISBN 978-111-8133-576.
- [32] BADR, M.Z.A. Molecular rearrangements, part 33, photolysis and thermolysis of aryl nitramines. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2004, vol. 162, issue 1, s. 163-170. DOI: 10.1016/j.nainr.2003.07.001.
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603003003514>
- [33] Bradley, Jean-Claude; Williams, Antony; Lang, Andrew (2014): Jean-Claude Bradley Open Melting Point Dataset. figshare.
<http://dx.doi.org/10.6084/m9.figshare.1031637>

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

<i>zkratka</i>	<i>význam</i>
ALL	Akutní lymfatická leukémie
AML	Akutní myeloidní leukémie
BINAP	2,2'-bis(difenylfosfino)-1,1'-binaftyl
CLL	Chronická lymfatická leukémie
CML	Chronická myeloidní leukémie
COD	1,5-Cyklooktadien
DME	Dimethyl ether
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMPAO	[(2,6-dimethylfenyl)amino](oxo)octová kyselina
DMSO	Dimethyl sulfoxid, (CH ₃) ₂ SO
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DPPF	1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocene
FDA	Food and Drug Administration
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HPTLC	Vysokoúčinná tenkovrstvá chromatografie
LiNTMS	Lithium bis(trimethylsilyl)amid
NMR	Nukleární magnetická rezonance
THF	(CH ₂) ₄ O, tetrahydrofuran
TLC	Tenkovrstvá chromatografie

9 PŘÍLOHY

9.1 Použité analytické přístroje

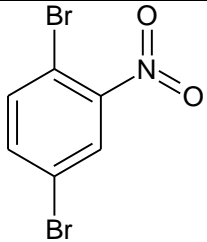
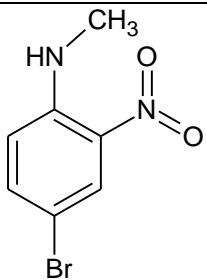
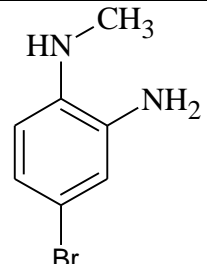
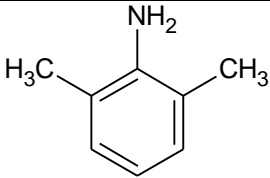
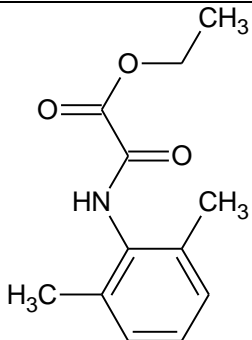
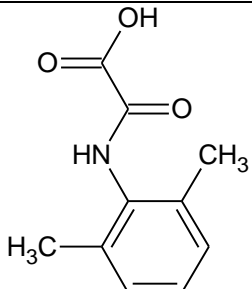


Obrázek 4: HPLC ULTIMATE 3000

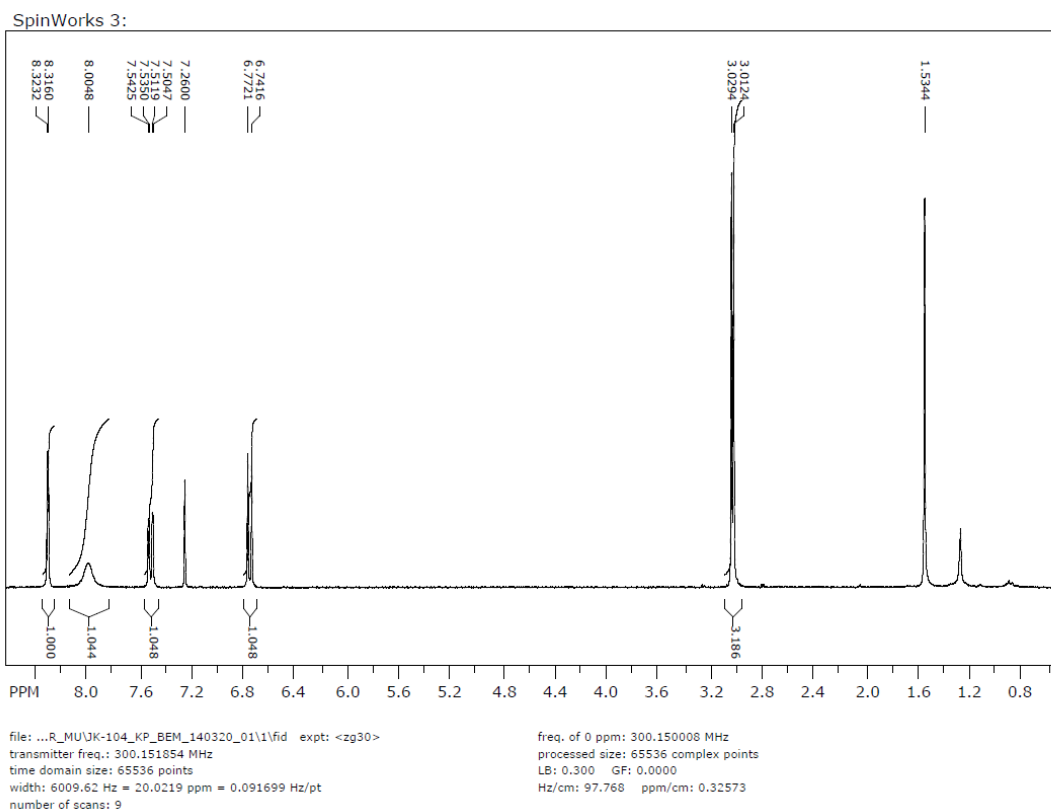


Obrázek 5: NMR Bruker Shield 300 MHz

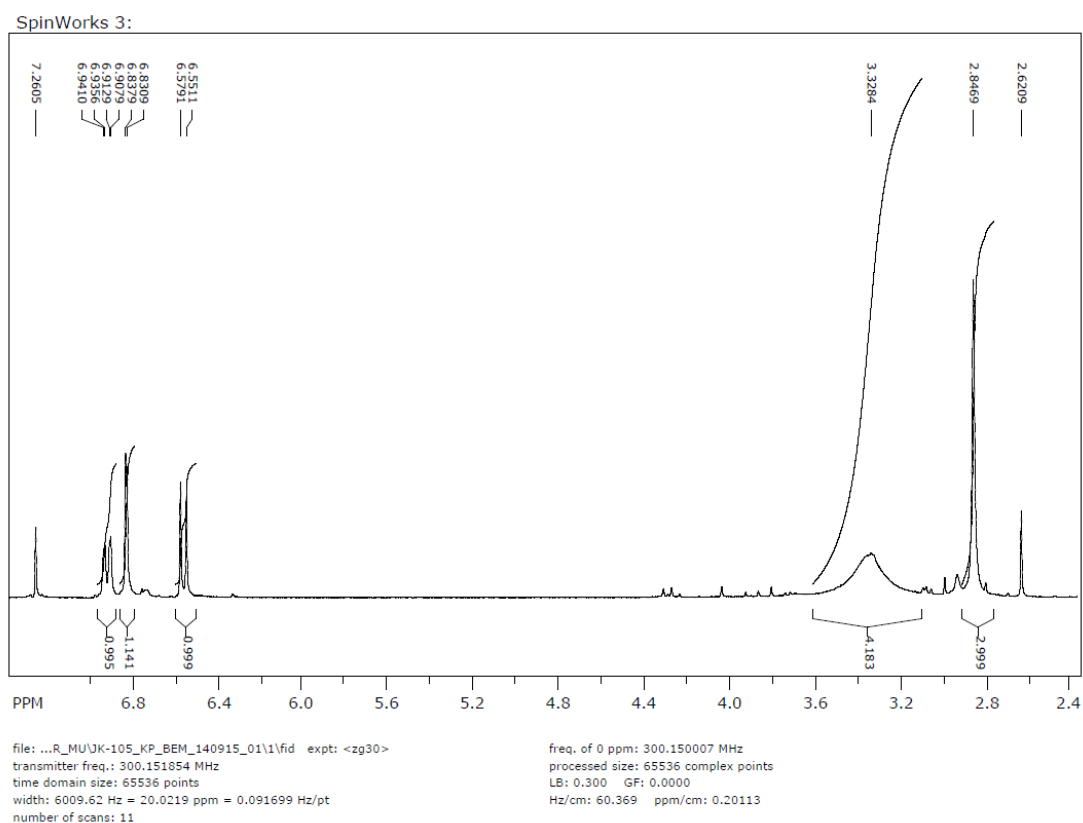
9.2 Seznam sloučenin

Popis	Struktura
<p>1) Kód: XVI Název: 1,4-dibromo-2-nitrobenzene Molekulový vzorec = $C_6H_3Br_2NO_2$ Molekulová hmotnost = 280,90 g/mol</p>	
<p>2) Kód: XVII Název: 4-bromo-N-methyl-2-nitroanilín Molekulový vzorec = $C_7H_7BrN_2O_2$ Molekulová hmotnost = 231,04 g/mol</p>	
<p>3) Kód: XVIII Název: 4-bromo-N¹-methylbenzene-1,2-diamin Molekulový vzorec = $C_7H_9BrN_2$ Molekulová hmotnost = 201,06 g/mol</p>	
<p>4) Kód: XXVI Název: 2,6-dimethylanilín Molekulový vzorec = $C_8H_{11}N$ Molekulová hmotnost = 121,18 g/mol</p>	
<p>5) Kód: XXVII Název: ethyl [(2,6 dimethylfenyl)amino](oxo)acetát Molekulový vzorec = $C_{12}H_{15}NO_3$ Molekulová hmotnost = 221,25 g/mol</p>	
<p>6) Kód: XXVIII Název: [(2,6-dimethylfenyl)amino](oxo)octová kyselina Molekulový vzorec = $C_{10}H_{11}NO_3$ Molekulová hmotnost = 193,2 g/mol</p>	

9.3 Naměřená NMR spektra

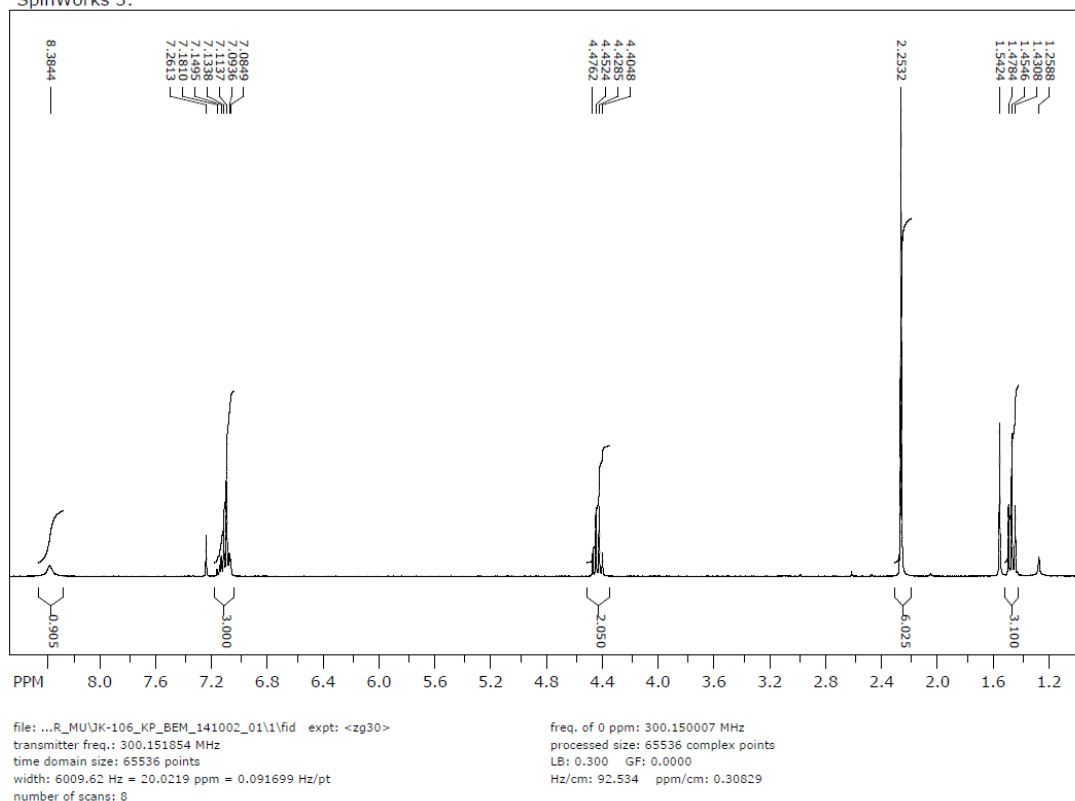


Obrázek 6: NMR spektrum XVII



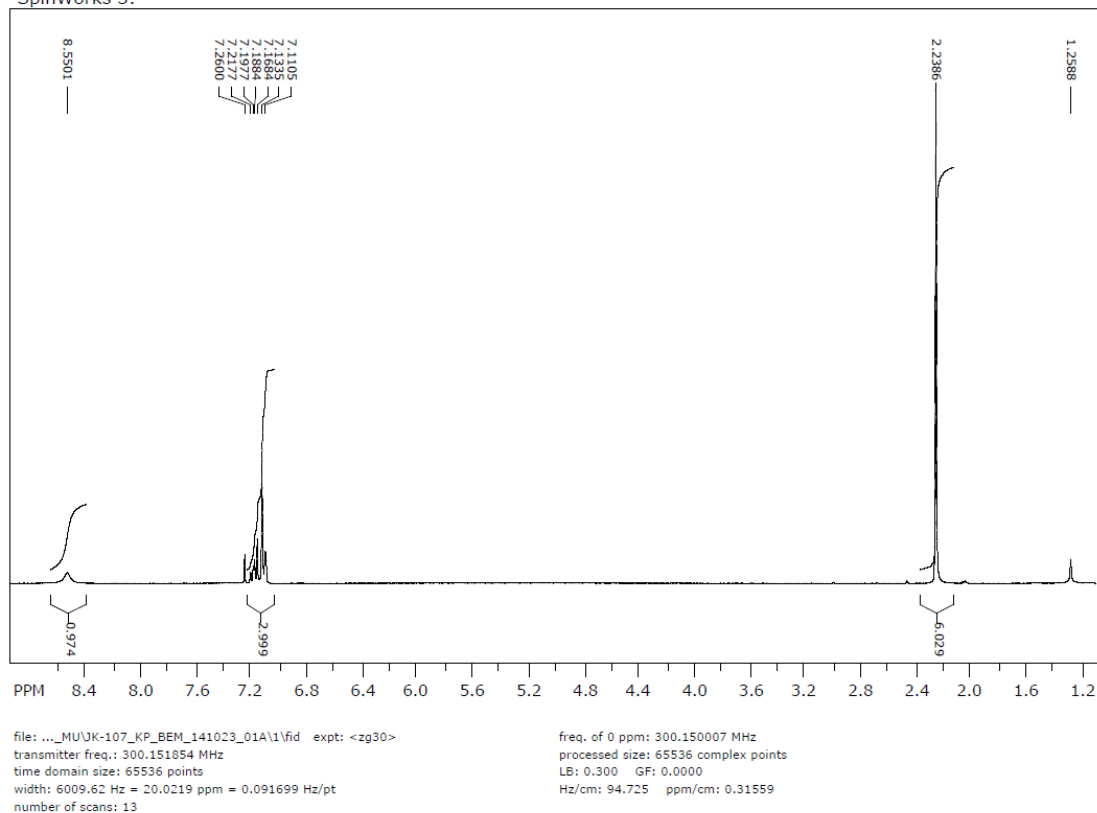
Obrázek 7: NMR spektrum XVIII

SpinWorks 3:



Obrázek 8: NMR spektrum XXVII

SpinWorks 3:



Obrázek 9: NMR spektrum XXVIII